Lane Medical Library

Aus der
**medizinischen Universitäts-Poliklinik München.**
Vorstand: Professor Dr. RICHARD MAY.

# Über die Meiostagmin-Reaktion.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin, verfaßt und einer hohen medizinischen Fakultät der
Bayer. Ludwig - Maximilians - Universität
in München
vorgelegt von

IWAN BRATOFF
aus Woden (Mazedonien).

München 1926.

Gewidmet meinen Eltern.

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät München.
Referent: Professor Dr. Richard May.

Eine der wichtigsten Aufgaben jeder erfolgreichen Therapie bösartiger Geschwülste ist eine sichere und frühzeitige Diagnose. Eine Karzinomreaktion, welche imstande wäre, mit absoluter Sicherheit und frühzeitig bösartige Erkrankungen zu erkennen, bedeutete schon eine teilweise Lösung des Problems einer Karzinomtherapie.

Die symptomatische Medizin vermag dieses Postulat nicht zu erfüllen. Der histologischen, der bis nun einzig exakten Diagnostik, sind enge Grenzen gezogen. da sie bei internen Erkrankungen zumeist nicht in Betracht kommt. So sieht man in den letzten Jahren Chemie und Biologie sich um die Lösung dieser Probleme bemühen. Die Suche nach einer Karzinomreaktion setzt neben anderem auch ein Verständnis für das Wesen der Geschwülste, der Eigenschaften der Geschwulstzellen voraus. Fragen theoretischer Natur haben zur Entdeckung einer Reihe neuer wichtiger Tatsachen insbesondere über die biologisch-chemischen Eigenschaften der Geschwulstzellen geführt.

Die experimentellen Arbeiten haben unzweifelhaft erwiesen, daß das ätiologische Agens der Geschwülste nicht unter den bekannten Mikroorganismen zu suchen sei, sondern in der Geschwulstzelle selbst gelegen sein dürfte.

Diese jetzt ziemlich allgemein angenommene Anschauung ist richtunggebend geworden, für die weiteren Arbeiten. Ob die Karzinomzelle selbst als das ätiologische Agens anzusehen ist, oder ob ein unbekannter Virus parasitär in der Zelle die Ursache der pathogenetischen Proliferation ausmacht, dürfte für die serobiologische Richtung irrelevant sein. Man ging daran, nach dem Prinzip der bei Infektionskrankheiten bewährten serodiagnostischen Methoden auf serologischem Wege die Karzinomreaktion zu suchen.

Es galt zunächst die Frage zu entscheiden, ob die Karzinomzelle different von der Organzelle ist und ein spezifisches Gift enthält, demnach imstande ist, die Produktion spezifischer Antikörper im Organismus auszulösen, ob es z. B. gelingt, mittels Karzinomzellen spezifische Karzinompräzipitine zu gewinnen.

Engels und Mertens gingen von der Voraussetzung aus, daß im Serum Karzinomkranker ein spezifisches Agens vorhanden sein dürfte und behandelten mit Karzinomserum Kaninchen, um Präzipitin zu erzeugen. Es gelang ihnen aber nicht, ein spezifisches Präzipitin eindeutig nachzuweisen. Auch durch Absättigungsversuche ist ein spezifisches Präzipitin nicht erwiesen worden.

Einen anderen Weg schlug Maragliano ein. Er hat mit Magensaft Karzinomkranker Kaninchen vorbehandelt und ein Präzipitin gewonnen, welches nur mit Magensaft Karzinomkranker präzipitiert. Von 17 Fällen von Magenkarzinomkranken haben 16 positiv reagiert, von 25 anderen Magenerkrankungen und 8 Fällen von Gastritis reagierte kein Fall. Die Nachprüfung dieser Angaben Maraglianos wäre zunächst in praktischer Hinsicht sehr erwünscht, aber auch in theoretischer Beziehung könnte sie manche Aufklärungen bringen. Wie aus Folgendem hervorgehen wird, ist es nicht gelungen, mit Tumorzellen einwandfrei spezifische Präzipitini zu erzeugen. Wenn es nun mit dem Magensaft von Karzinomkranken gelingen soll, Präzipitine spezifischer Natur zu erzeugen, wäre zu erwägen, ob die Ursache für diese Präzipitine nicht etwa in Abbauprodukten des Eiweißes zu suchen wäre. Durch die Untersuchungen von Friedrich von Müller ist gezeigt worden, daß im Magensaft Karzinomkranker peptitspaltende Fermente vorkommen, es wäre daran zu denken, daß aus dem Serumeiweiß Abbauprodukte entstehen, welche ein anderes Antigen darstellen, als das arteigene Serumeiweiß. Durch Immunisierung mit derartigem Magensaft dürften dann Präzipitine gewonnen werden, welchen eine Spezifität zukommen könnte und die sich zur Diagnose des Magenkarzinoms eignen würden.

Es ist Ranzi auch nich gelungen, durch Behandlung mit Karzinomzellen bei Kaninchen spezifische Präzipitine zu erzeugen. Das Serum derart vorbehandelter Kaninchen präzipitierte nicht nur Extrakte aus Tumoren, sondern auch solche aus normalen Organen und auch normales Serum; es konnten auch keine quantitaven Differenzen nachgewiesen werden. Ein mit normalem Menschenserum gewonnenes Präzipitin, welches als Kontrolle herangezogen wurde, gab

ganz die gleichen Resultate. Besonders wichtig für die hier diskutierte Frage sind diejenigen Versuche Ranzis, welche an Menschen und Affen ausgeführt wurden.

Den Ausgangspunkt für diese Versuche bildet die Tatsache, daß die Gewinnung von Isoantikörpern ungleich schwerer gelingt, als die der Heteroantikörper, namentlich ist es schwer Isopräzipitine zu erzeugen. Würde die Tumorzelle artfremde Antigene enthalten, müßten bei Vorbehandlung von Menschen oder Affen viel eher Antikörper zu erwarten sein, als wenn blos arteigene Antigene, wie sie den Organzellen zukommen, vorhanden wären.

Er hat zunächst Affen mit menschlichen Tumoren vorbehandelt und gefunden, daß bei Affen keine Präzipitine gebildet wurden. Ausschlaggebend ist aber der Versuch am Menschen. Zwei karzinomkranke Menschen wurden zu therapeutischen Zwecken mit Karzinomextrakt vorbehandelt und deren Serum nachher auf Präzipitine untersucht. Das Resultat war ein völlig negatives.

Aus dem Vorangehenden würde sich zunächst die wichtige Tatsache ergeben. daß die Tumorzellen gleiche Antigene enthalten, wie normale Organzellen, und daß weder quantitative noch qualitative Unterschiede feststellbar sind.

Die Reaktion, die hier näher besprochen werden soll, und die sich bis jetzt einen guten Ruf als diagnostisch verwertbar bei Karzinom erworben hat, ist die Meiostagmin-Reaktion. Weinhart hat zunächst gezeigt, daß die Mischung von Toxin und Antitoxin bestimmte physikalische Veränderungen erfährt, wodurch eine Diffusionsbeschleunigung zustande kommt. Er hat diese physikalisch-chemische Aenderung zu einer diagnostischen Methode verwertet.

Askoli ging ebenfalls von der Vorstellung aus, daß im Gemisch von Antigen und Antikörper physikalische Veränderungen vor sich gehen müssen und versuchte dieselben mittels Messung der Oberflächenspannung nachzuweisen. Die Versuche wurden mittels des Stalagmometers von Traube ausgeführt und zeigten tatsächlich, daß Antigen plus Antikörpergemische, Typhusserum plus Typhusbazillenextrakt, Syphilisserum plus Syphilisbazillenextrakt, Serum von Echinokokkuskranken plus Echinokokkenextrakt zum Unterschied

von normalem Serum durch Herabsetzung der Oberflächenspannung eine erhöhte Tropfenzahl ergeben.

Askoli benannte die Reaktion Meiostagmin-Reaktion von „μειων“ weniger „στάζω“ Tropfen“. Ein besonderes Interesse erweckte die Reaktion, als Askoli und Isar ihre Verwertbarkeit für die Karzinomdiagnose mitgeteilt hatten. Die Mischung des ätherischen Tumorextraktes und des verdünnten Karzinomserums ergab eine Erhöhung der Tropfenzahl um 2 und mehr Tropfen gegenüber der Mischung des Extraktes mit Normalserum und Serum anderer Kranker. Erhöhung der Tropfenzahl um mindestens 2 Tropfen spricht nach Askoli für Karzinom.

Anfangs hielt Askoli diese Reaktion für analog derjenigen mit Bakterienextraktion und Serum bei Typhus und Tuberkulose. Er faßte sie als eine Antigen-Antikörperreaktion auf. Später als Michael und Cattorretti dieselben Resultate mit Extrakten aus Hundepankreas erhielten, ließ Askoli seine ursprüngliche Annahme fallen.

Die Meiostagmin-Reaktion verlangt zu ihrer Ausführung gewisse Apparate und Utensilien, welche von vornherein nicht in jedem Laboratorium vorhanden sind.

Wir benötigen:

Ein J. Traube'sches Stalagmometer, von 56 Tropfen das bei guter Beherrschung bei verschiedenen Bestimmungen mit ein und derselben Flüssigkeit bei Zimmertemperatur höchstens zwei Tropfenbruchteile Differenz ergeben darf; vorsichtshalber nimmt man wenigstens zu Anfang alle Bestimmungen doppelt vor. Die vorher erwärmten Flüssigkeiten sind auf Zimmertemperatur langsam abzukühlen. Es ist dringend davor zu warnen, die Abtropffläche mit den Fingern anzufassen. Ferner brauchen wir lange und kurze Reagenzgläser, Zentrifugengläser, Mensuren, Kolben. Meßpipetten von 0,1 0,2, 0,3, mit zur Spitze reichender Teilung, ein Messser, eine Schere, eine Gtasplatte, eine Naß- und Trockenmühle mit Hartporzellanmahlwerk, ein Wasserbad, einen Brutofen, einen Eisschrank, eine Zentrifuge.

Alle Glassachen müssen gereinigt und sterilisiert werden. Zur Reinigung werden die Pipetten, Reagenzgläser etc. nur mit Brunnenwasser und dann mit destiliertem Wasser durchgespült. Auf jeden Fall muß bei der Reinigung die Verwendung

von chemisch wirksamen Substanzen sorgsam vermieden werden.

Zur Ausführung des eigentlichen Versuches benötigen wir einen Tumorextrakt (Antigen) und das inaktivierte Serum des zu Untersuchenden.

Die wichtigste Vorbedingung zur Erzielung guter Resultate ist ein wirksamer Extrakt. Bei seiner Herstellung verfahren wir folgendermaßen: Nicht degeneriertes Karzinomgewebe wird mit der Schere zerkleinert, im Mörser verrieben und zerstampft. Der erhaltene Brei wird getrocknet. Der getrocknete Brei wird mit einem Messer aufs feinste zerkleinert und 24 Stunden bei einer Temperatur zwischen 37° und 50° im Vakuum unter $CaCl_2$ aufbewahrt, darauf in einer Trockenmühle mit Hartporzellanmahlwerk gemahlen und schließlich noch einmal im Vakuum unter $CaCl_2$ gehalten. Die so erhaltene Masse wird mit 96%igem Alkohol auf wenigstens 24 Stunden auf 37° erwärmt, der Alkohol abgegossen und noch zweimal unter jedesmaliger vierundzwanzigstündiger Digestion im Brutschrank gewechselt. Dann wird der Tumorbrei getrocknet, und fein pulverisiert und dann mit Äther bei 30° ausgezogen bis letzterer farblos bleibt. Die filtrierten Alkohol- und Ätherextrakte werden zwischen 37—50° zur Trocknung eingeengt, von den vereinigten Rückständen wird eine gesättigte ätherische Lösung hergestellt, welche das Antigen enthält. Sie stellt eine gelbliche, klebrige Masse dar, die in viel wasserfreiem Äther gelöst wird. Nach Filtration wird die Lösung soweit bei Zimmertemperatur verdampft, bis sich ein minimaler pulverförmiger Niederschlag abscheidet, dann filtriert man. Das Filtrat ist das brauchbare Antigen. Zu dünne Antigene verändern sich schnell, zu dicke emulsionieren sich schlecht. In letzterem Falle kann man sie vor dem Gebrauche noch etwas mit Aether verdünnen. Das Tumorantigen ist auch in Toluol, Chloroform, Ligroin, Schwefelkohlenstoff, Petroläther und Methylalkohol löslich. Von allen diesen Lösungsmitteln ist zur Meiostagmin-Reaktion nur Aether und Methylalkohol brauchbar, da die übrigen schon an sich die Oberflächenspannung stark herabsetzen. Der Methylalkohol hat vor dem Aether außer dem Vorteil des höheren Siedepunktes noch den weiteren der vollständigen Emulsionsfähigkeit der Stammantigenlösung in destilliertem

Wasser und in physiologischer Kochsalzlösung. Es muß aber ausdrücklich betont werden, daß die methylalkoholische Antigenstammlösung viel labiler ist, als die ätherische, besonders bei schütteln (Stabilini, De Agostini).

Das Antigen ist sehr empfindlich gegen Licht, Schütteln, und Wasser. Nach fünfstündigem Schütteln im Schüttelapparat werden kleine Antigenmengen in zugeschmolzenen Röhrchen sehr geschädigt und gänzlich unbrauchbar. Für die Konservierung des Antigens leistet verjagen des Aethers und Aufbewahrung in zugeschmolzenen Röhrchen keine Gewähr, auch löst sich dann das Antigen mitunter nur zum Teil wieder in Aether. Das Antigen muß im Eisschrank aufbewahrt werden, da sonst der Aether mit der Zeit verdampft, und die Konzentration der Lösung verändert wird. Erwärmung bis $50^0$ hat an sich keinen Einfluß auf die Wirksamkeit des Antigens. (Stabilini.)

Es ist schon vorgekommen, daß das Antigen nach einiger Zeit seine Wirksamkeit einbüßte auch ohne daß ein Niederschlag ausfiel und ohne daß man die Ursache dafür anzugeben imstande wäre. Vor solchen verdorbenen Antigenen ist dringend zu warnen. Es kann sich wie eine zu stark konzentrierte Antigenemulsion verhalten und Oberflächenspannungserniedrigung sowohl in Normal- als in Tumorserum als in Wasser hervorrufen. Man erkennt die Verdorbenheit daran, daß diese Wirkung schon in Verdünnungen entfaltet, in denen sie früher mit Normalseris keinen Ausschlag ergab, und daß sich der Ausschlag sofort nach dem Antigenzusatze einstellt In anderen Fällen wiederum bewirken verdorbene Antigene weder mit Normal-, noch mit Tumorserum irgendeine Tropfenzunahme oder sie lassen sich nicht emulsionieren.

Ist Aether verdampft, so muß genau auf das ursprüngliche Volumen durch entsprechenden Zusatz aufgefüllt werden, sonst ändert sich selbstverständlich der Antigentiter, und man erhält dann auch mit Normalserum Ausschlag. Hieraus ergibt sich die unerläßliche Bedingung, um zuverlässige Resultate zu erhalten, bei jedem Versuche zwei Kontrollen anzusetzen: 1. mit einem sicheren positiven Fall, 2. mit einem sicher negativen Fall. Der Ausfall dieser Kontrollversuche gibt darüber Aufschluß, ob das Antigen seine Wirksamkeit beibehalten hat, und ob es nicht schon zersetzt ist und auch die Oberflächenspannung von Nichttumorserum unspezifisch herabsetzt. Als

sicher positives Kontolltumorserum (welches im Eisschrank aufbewahrt längere Zeit haltbar ist), ist ein solches zu wählen, welches mit der titrierten Antigenemulsion nur mäßige Ausschläge ergibt. Verwendet man ein besonders wirksames Tumorserum, so setzt man sich leicht einer irrtümlichen Beurteilung des Versuchsergebnisses aus. Leicht geschädigte Antigene können nämlich mit stark wirksamem Tumorserum noch reagieren, während sie gegenüber schwächer wirksamen Serum aus leicht ersichtlichem Grunde versagen, und es werden auf diese Weise positive Sera fälschlich als meiostagminnegativ angesprochen.

Die Herstellung der Antigenverdünnung muß genau vorschriftsmäßig ausgeführt werden; sonst erhält man schlechte zur Reaktion ungeeignete Emulsionen. Man entnimmt mit vollständig trockener (sonst riskiert man nicht nur eine unbrauchbare Emulsion zu bekommen, sondern auch das Stammantigen zu verderben) Pipette eine bestimmte Menge zum Beispiel 0,1 Kubikzentimeter Stammantigen, bringt es auf den Boden eines trockenen Reagensglases, dann läßt man den Aether in einem Wasserbad zwischen 37—50° verdampfen, dann gießt man auf einmal 1 ccm. physiologische Kochsalzlösung hinzu und schüttelt sehr kräftig durch. Man bekommt eine weiße homogene Emulsion, die nicht haltbar ist. Nicht alle Antigene lassen sich emulsionieren; die Emulsion soll fein und homogen sein, widrigenfalls dieselbe zu verwerfen ist. Es passiert dies mitunter auch mit ausgezeichnetem Antigen. Es ist nun die Verdünnung, in der das Stammantigen zur Verwendung kommen soll, zu bestimmen.

Mit zu stark verdünnten Antigenen sind die Ausschläge sowohl mit Normal- als mit Tumorseris unbedeutend. Das Antigen ist folglich in solcher Verdünnung zu gebrauchen, daß bei der angegebenen Versuchsanordnung die Ausschläge für Normalsera nicht mehr als einen Tropfen ausmachen; und zwar soll dabei die stärkste Antigenkonzentration (schwächste Verdünnung) gewählt werden, welche dieser Forderung noch entspricht.

Am besten ist die Erläuterung für die Antigeneinstellung an einem Beispiele zu verstehen. Es wird die Tropfenzahl eines Normal- und eines die Reaktion gebenden Tumorserums

bei beiden nach $^1/_{20}$ Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung bestimmt. Zu je 9 ccm. derselben wird dann für gewöhnlich je 1 ccm. des auf 1:50, 100, 500 verdünnten Antigen zugesetzt, im übrigen wird wie angegeben verfahren.

Tabelle I:

| 9 ccm $^1/_{20}$ Verdünnt. Normalserum | Tropfenzahl nach 2 Stund. bei 37° | 9 ccm $^1/_{20}$ Verdünnt. Tumorserum | Tropfenzahl nach 2 Stund. bei 37° |
|---|---|---|---|
| dto + 1 c.c physiolog. Kochsalz + Antigen 1:50 | 65 + 2 | dto + 1 c.c physiolog. Kochsalz + Antigen 1:50 | 65 + 3 |
| dto + 1 c.c physiolog. Kochsalz + Antigen 1:100 | 69 + 1 | dto + 1 c.c physiolog. Kochsalz + Antigen 1:100 | 65 + 2 |
| dto + 1 c.c physiolog. Kochsalz + Antigen 1:500 | 64 + 1 | dto + 1 c.c physiolog. Kochsalz + Antigen 1:500 | 65 + 1 |

Wie aus der Tabelle ersichtlich, liegt die gesuchte Grenze zwischen 1:100, wir suchen sie noch enger zn fassen:

Tabelle Ia:

| 9 ccm $^1/_{20}$ Verdünnt. Normalserum | Tropfenzahl nach 2 Stund. bei 37° | 9 ccm $^1/_{20}$ Verdünnt. Tumorserum | Tropfenzahl nach 2 Stund. bei 37° |
|---|---|---|---|
| dto + 1ccm physiolog. Kochsalz + Atigen 1:50 | 65 + 3 | dto + 1ccm physiolog. Kochsalz + Atigen 1:50 | 65 + 4 |
| dto + 1ccm physiolog. Kochsalz + Atigen 1:75 | 65 + 2 | dto + 1ccm physiolog. Kochsalz + Atigen 1:75 | 65 + 3 |
| dto + 1ccm physiolog. Kochsalz + Atigen 1:100 | 65 + 1 | dto + 1ccm physiolog. Kochsalz + Atigen 1:100 | 55 + 2 |

Nach dieser Prüfung würde für das untersuchte Antigen zu dem diagnostischen Versuche die Verdünnung 1:100 als die passende zu bezeichnen sein; noch genauere Einstellung wäre nutzlos. Die Antigeneinstellung kann noch einfacher so erfolgen, daß man gleich eine größere Serie von Reagensgläsern mit Normalserumverdünnung und fallender Antigen-

menge (1:50, 100, 250, 500 etc.) angesetzt und die Tropfenzahl in derselben Reihe nur bis zu jener Verdünnung bestimmt, welche den gewollten Ausschlag nicht übersteigt. Auf diese Weise eingestelltes Antigen gibt in den entsprechenden Verdünnungen mit Blutserum bei verschiedenen Erkrankungen mit einigen Ausnahmen nur negative Ausschläge, also solche, die denjenigen von Normalseris gleichkommen, nur mit Serum von Patienten mit bösartigen Geschwülsten, fallen die Ausschläge deutlich positiv aus: Ausschläge von über zwei Tropfen

Für die Ausführung der Reaktion benötigen wir zirka 5 ccm Blut, das in einem kleinen sterilisierten Reagensglase aufgefangen wurde. Das Blut wird gleich darnach zentrifugiert, möglichst vor der Gerinnung. Sollte es gerinnen, so wird das Blut mit einem sterilisierten Glasstab umgerührt, und dann zentrifugiert. Mit dem so gewonnenen Serum wird mittels physiologicher Kochsalzlösung entsprechende Verdünnung hergestellt. Zu 9 ccm des verdünnten Blutserums wird 1 ccm der verdünnten Extraktkochsalzlösung zugesetzt, bei der Kontrollprobe statt dessen 1 ccm reine physiologische Kochsalzlösung. Dann kommen beide Proben bei $37^0$ auf zwei Stunden oder bei $50^0$ auf eine Stunde in den Brutkasten; die letztere Zeit genügt oft nicht, deswegen sollte man sie um eine Viertelstunde verlängern. Nach der Herausnahme aus dem Brutkasten läßt man die Proben bei Zimmertemperatur sich abkühlen. Darauf wird die Tropfenzahl mit dem Traubeschen Stalagmometer bestimmt und berechnet, um wieviel Tropfen die Probe mit dem emulgierten Antigen Zunahme zeigt gegenüber der ohne Antigenzusatz. Die Mischung Normalblutserum + emulgiertes Antigen muß dann die gleiche Tropfenzahl aufweisen, wie die Mischung Normalblutserum + Kochsalzlösung. Die Mischung Tumorblutserum + emulgiertes Antigen dagegen muß eine andere Tropfenzahl aufweisen als Tumorblutserum + physiologische Kochsalzlösung.

Wie schon erwähnt, ergeben sich bei Verwendung stark konzentrierten Antigens und Normalserums Ausschläge von derselben Stärke, wie mit Tumorserum. Dann beobachtet man aber die gleiche Oberflächenspannungserniedrigung, wenn man dieselbe Antigenmenge zu destiliertem Wasser hinzusetzt. Demnach findet in diesem Falle nicht ein der Meiostagmin-Reaktion ähnlicher Prozeß statt, sondern es ist einfach die

die Oberflächenspannung des Wassers herabsetzende Wirkung in den Antigen enthaltener Lipoidstoffe im Spiele, was auch aus dem Umstande hervorgeht, daß sich unter diesen Bedingungen die Zunahme der Tropfenzahl nach dem Antigenzusatze, zu Blut ebenso wie zu Wasser, einstellt. Ebensogut sind mit verschieden verdünntem Antigen, sowohl mi Normal- als auch mit Tumorseris spezifische Ausschläge zu erzielen. Die Richtigkeit der Annahme, daß es sich nicht um eine Antikörper-Reaktion handeln dürfte, bestätigen bereits die Arbeit von Micheli und Cattorotte, die denselben Vorgang mit Hundepankreasextrakten auslösen konnten und spätere Angaben von Askoli und Isar selbst, die Verwendbarkeit von Kalbs- und Rinderprankeas zeigen.

Die Resultate mit der angeführten Reaktion sind sehr gut, jedoch leiden sie sehr an der Labilität und Inkonstanz der Organextrakte, abgesehen von der Schwierigkeit der Herstellung derselben, wie es früher hervorgehoben wurde. Unter diesen Umständen war es naheliegend, Versuche mit künstlichen Extrakten anzustellen, die durch die Möglichkeit stets gleichmäßiger und leichter Herstellung diesem Mangel abhelfen sollte.

Luger und Koler untersuchten auf Veranlassung Prof. Dr. Kraus aus diesem Grund das Verhalten von Seris Karzinomatöser gegen Lipoide verschiedenster Art in verschiedenen Lösungen und Emulsionen.

Verwertbare Resultate erhielten sie erst bei Anwendung eines Antigen, unter Extraktion der verschiedenen Lezithine durch Azeton bei 50°.

Auf diese Art erhaltene Extrakte können zum Versuche (unmittelbar vorher) entsprechend verdünnt verwendet werden. Derartige Azeton-Auszüge aus Lezithin ergaben in 80% der untersuchten Karzinomfälle ein positives Resultat, bei anderen Krankheiten nur in 28% der Fälle, bei Gesunden überhaupt kein positives Resultat. Außerdem bekam Isar insbesonders mit Myristilsäure teils für sich, teils in Verbindung mit Gelatine- oder Agarlösungen befriedigende Resultate.

Zur Erklärung der Meiostagminreaktion kann man folgendes sagen: Der Fettransport im Blut kann unter pathologischen Bedingungen sehr beträchtlich werden. Der geringere Fettgehalt des normalen Blutes wird bei starker Fettnahrung

sowie bei Zuständen, bei denen ein erhöhter Fettransport aus den Fettdepots stattfindet, gesteigert, so zum Beispiel im Hunger, bei Phosphorvergiftung und Diabetes. Der Transport erfolgt in einer unbekannten wasserlöslichen Form, in Seifenform, oder Fettemulsion. Gleichzeitig ist fast immer ein erhöhter Cholestearingehalt des Blutes zu beobachten. Diese anisotropen Substanzen wurden auch bei chronischen Entzündungen gefunden, so in der Intima der Aorta, in den Alveolarepithelien, in der Lunge und in verschiedenartigen Endothelien, im Bindegewebe und in Tumorzellen. Die Karzinomkranken geraten unter dem Einflusse des Karzinoms, das alle Nährstoffe zu seinem eigenen Bedarf verbraucht, in einen Inanitionszustand, der mit dem Wachstum des Karzinoms mehr und mehr zunimmt. Dieses Wachstum geht in der Mehrzahl mit einer chronischen Entzündung einher. Das Blut wird mit zunehmender Kachexie immer mehr und mehr mit Lipoidensubstanzen überschwemmt. Es bildet sich eine latende Lipämie aus. Diese Lipoidsubstanzen geben sich bei der Meiostagmin-Reaktion zu erkennen dadurch, daß sie Oberflächenspannungserniedrigung hervorrufen. Das Antigen wird so eingestellt, daß nach seinem Zusatz zu dem Normalserum kein positiver Ausschlag erfolgt, oder mit anderen Worten: wird so viel Antigen zugesetzt, daß sich die Oberflächenspannung nicht um mehr als einen Tropfen vermindert: je mehr man zusetzt, desto größer wird der Ausschlag. Dasselbe gilt auch für das Wasser. Das zugesetzte Antigen reißt wahrscheinlich die gelösten Lipoidsubstanzen aus dem Serum heraus; dann ergibt sich eine dichtere Emulsion, welche die Oberflächenspannungserniedrigung hervorruft und damit eine größere Tropfenzahl ergibt. Daraus sieht man, daß nicht ein spezifisches Tumorantigen die Hauptrolle spielt, sondern die in ihm enthaltenen Lipoidsubstanzen.

Daß die Resultate der Meiostagmin-Reaktion trotzdem als diagnostisches Mittel bei Karzinom herangezogen werden kann, dürfte aus der folgenden Tabelle hervorgehen.

Meiostagmin Reaktion

| Autor | Tumoren | | | Gesunde u. andere Erkrankungen | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Zahl | +% | −% | Zahl | +% | −% |
| Askoli und Isar . . . . | 100 | 93 | 7 | 103 | 0.97 | 99.03 |
| D'este . . . . . | 12 | 91.7 | 8.3 | 18 | — | 100 |
| Micheli und Cattorretti . . | 18 | 87.5 | 12.5 | 19 | — | 100 |
| Agostini . . . . . | 27 | 89.2 | 11.8 | 27 | — | 100 |
| Werson . . . . . | 18 | 55.3 | 44.5 | 6 | — | 100 |
| Todesko . . . . . | 27 | 92.3 | 3.7 | 33 | 6 | 96 |
| Stamler . . . . . | 120 | 73 | 17 | 230 | 20 | 80 |
| Keling . . . . . | 45 | 47 | 53 | 85 | 3.5 | 9.62 |
| Schumkowoi Tribunoi . . | 513 | 79 | 21 | 623 | 9.8 | 90.2 |
| | 880 | 79.8% | 20.2% | 1144 | 4.5% | 95.5% |

Eigene Untersuchungen,
Karzinom-Fälle.

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Ca Ventriculi, kachektisch . . . | 2 Tropfen |
| 2. | Ca Ventriculi, operiertes Mamma Ca | 2,5 „ |
| 3. | Ca Ventriculi . . . . . | 2,1 „ |
| 4. | Ca Ventriculi, achilia gastrica . . | 2 „ |
| 5. | Pylorus Ca, operabel . . . . . | 0,5 „ |
| 6. | Pylorus Ca, inoperabel . . . . | 3,8 „ |
| 7. | Ca Ventriculi . . . . . | 3,2 „ |
| 8. | Ca Ventriculi . . . . . | 1,4 „ |
| 9. | Ca Ventriculi, operabel . . . . | 4,3 „ |
| 10. | Mamma Ca, operiert . . . . . | 0,6 „ |
| 11. | Mamma Ca, operiert . . . . . | 3 „ |
| 12. | Ca Ventriculi . . . . . | 3 „ |
| 13. | Ca Ventriculi, kachektisch . . . | 3,4 „ |
| 14. | Ca Ventriculi, kachektisch . . . | 4,7 „ |
| 15. | Mamma Ca, operiert . . . . . | 2,5 „ |
| 16. | Ca Ventriculi, mit Leber Metastase | 2,2 „ |
| 17. | Unterlippen Ca . . . . . | 2,1 „ |
| 18. | Unterlippen Ca, kachektisch . . . | 4 „ |
| 19. | Cardia und Pankreas Ca . . . . | 1,9 „ |
| 20. | Ca Ventriculi, kachektisch . . . | 1,8 „ |
| 21. | Ca Ventriculi, kachektisch . . | 3,1 „ |
| 22. | Ca Ventriculi, kachektisch . . . | 3 „ |

| | | |
|---|---|---|
| 23. | Ca Ventriculi, kachektisch . . . . | 2,2 Tropfen |
| 24. | Ca Ventriculi . . . . . | 2,4 „ |
| 25. | Rektum Ca . . . . . | 2,3 „ |
| 26. | Oesophagus Ca . . . . . | 2,1 „ |
| 27. | Lungen Ca, primäres ovarial Ca . | 2,5 „ |
| 28. | Ca Ventriculi . . . . . | 2 „ |
| 29. | Ca Ventriculi . . . . . | 2 „ |
| 30. | Mamma Ca, bestrahlt . . . . . | 2,2 „ |
| 31. | Duadenal Ca . . . . . | 2,5 „ |
| 32. | Rektum Ca . . . . . | 2.5 „ |
| 33. | Rektum Ca, bestrahlt . . . . . | 1,2 „ |
| 34. | Rektum Ca . . . . . | 2,1 „ |
| 35. | Ca Ventriculi . . . . . | 2 „ |
| 36. | Leber Ca mit Ikterus . . . . . | 1,4 „ |
| 37. | Oesophagus Ca . . . . . | 2,1 „ |
| 38. | Ca Ventriculi . . . . . | 2,4 „ |

Normalsera und andere Kranke.

| | | |
|---|---|---|
| 1. | Normal Serum . . . . . | 0,8 Tropfen |
| 2. | Ulcus Ventriculi . . . . . | 0,5 „ |
| 3. | Lues III . . . . . | 0,3 „ |
| 4. | Lympatische Leunämie . . . . | 0,2 „ |
| 5. | Normal Serum . . . . . | 0,5 „ |
| 6. | Arteriosclerosis . . . . . | 0,5 „ |
| 7. | Chr. Bronchitis . . . . . | 0,9 „ |
| 8. | Ulcus Ventriculi . . . . . | 0,7 „ |
| 9. | Arteriosclerosis . . . . . | 0,6 „ |
| 10. | Normal Serum . . . . . | 0,7 „ |
| 11. | Gastritis . . . . . | 1,1 „ |
| 12. | Ulcus Ventriculi . . . . . | 0,6 „ |
| 13. | Gicht . . . . . | 1,3 „ |
| 14. | Gastritis . . . . . | 1,5 „ |
| 15. | Normal Serum . . . . . | 0,9 „ |
| 16. | Dyspepsie . . . . . | 0,8 „ |
| 17. | Kardiae Lipom . . . . . | 1,2 „ |
| 18. | Pleura Schwarle . . . . . | 0,2 „ |
| 19. | Urtikaria . . . . . | 0,2 „ |
| 20. | Tb pulmon . . . . . | 1,3 „ |
| 21. | Normal Serum . . . . . | 0,4 „ |
| 22. | Tb pulmon . . . . . | 0,3 „ |

| | | |
|---|---|---|
| 23. Gicht | 1,5 | Tropfen |
| 24. Arteriosclerosis | 0,0 | „ |
| 25. Chr. Bronchitis | 1,8 | „ |
| 26. Artritis chronica | 0,5 | „ |
| 27. Tb pulmon 3,3. Nach 2 Monaten 2 Kilo Zunahme | 1,3 | „ |
| 28. Artritis chronica | 0,6 | „ |
| 29. Chr. Bronchitis | 0,6 | „ |
| 30. Normal Serum | 0,2 | „ |
| 31. Gastritis subacute | 1,8 | „ |
| 32. Ulcus Ventriculi | 1 | „ |
| 33. Arteriosclerosis | 1,4 | „ |
| 34. Achylia gastrica. kachektisch | 1,5 | „ |
| 35. Lues III | 1,5 | „ |
| 36. Ulcus Ventriculi | 1,1 | „ |
| 37. Pleuritis exsudativa | 1,2 | „ |
| 38. Normal Serum | 0,8 | „ |
| 39. Arthritis chronica | 0,4 | „ |
| 40. Lues III | 0,9 | „ |
| 41. Ulcus Ventriculi | 0,8 | „ |
| 42. Ulcus Ventriculi, abgemagert | 1,1 | „ |
| 43. Hämolytischer Ikterus | 1,3 | „ |
| 44. Ulcus Pylori | 1,2 | „ |
| 45. Chr. Bronchitis mit Emphysem | 1,4 | „ |
| 46. Nephrozirrhose | 1,3 | „ |
| 47. Normal Serum | 0,6 | „ |
| 48. Diabetes Melitus | 1,7 | „ |
| 49. Ulcus Ventriculi | 0,9 | „ |
| 50. Normal Serum | 0,7 | „ |
| 51. Chr. Bronchitis mit Emphysem | 1,4 | „ |
| 52. Tb Pulmon | 1,4 | „ |
| 53. Normal Serum | 0,9 | „ |
| 54. Ulcus Ventriculi mit Durchfällen | 1,9 | „ |
| 55. Dyspepsie | 1.6 | „ |
| 56. Dyspepsie | 0,2 | „ |
| 57. Ulcus Ventriculi | 1,3 | „ |
| 58. Arteriosclerosis | 1,1 | „ |
| 59. Ulcus Ventriculi | 0,9 | „ |
| 60. Arthritis chronica | 0,4 | „ |
| 61. Normal Serum | 0,7 | „ |

62. Ulcus Ventriculi . . . . . 1,6 Tropfen
63. chronische Bronchitis . . . . . 1,3 „
64. Ulcus Ventriculi . . . . . 0,3 „
65. Arthritis chronica . . . . . 0,5 „
66. Tb Pulmon . . . . . 1,4 „
67. Ulcus duadeni . . . . . 1,2 „
68. Normal Serum . . . . . 0,4 „
69. Arthritis chronica . . . . . 0,5 „
70.—77. S n. S.

Zur Untersuchung gelangten 115 Sera, davon 38 von Kranken, bei denen klinisch die Diagnose Karzinom gestellt war, 77 von Gesunden und anderweitigen Krankheiten. Von den 38 Karzinomfällen ergaben bei 30 Fällen gleich 83% einen Ausschlag von 2 bis 4,7 Tropfen, bei 2 Fällen gleich 6% wurde ein verdächtiger Ausschlag erhalten, 5 Fälle gleich 12% verhielten sich negativ. (Der Entdecker des Verfahrens hat vorgeschlagen, erst Differenzen von 2 Tropfen und mehr als positiv anzusehen, 1,5 bis 2 Tropfen nur als verdächtig.) In zwei meiner negativen Fällen wurde die Blutentnahme gemacht, als sich die Patienten nach der Operation schon im Stadium der Besserung befanden. Ein Fall mit Ca. Rekti war vorher mit Röntgenstrahlen bebandelt worden. Für die übrigen 4 Fälle können wir keine Erklärung geben.

Meine Versuche mit Karzinomseris bestätigen die bisher erzielten Resultate anderer Autoren. Von großer Wichtigkeit ist aber die Frage, ob die Meiostagmin-Reaktion einzig und allein mit dem Serum von Individuen mit malignen Tumoren positiv ausfällt. Hier war zunächst das Ergebnis von Wert, daß alle von Gesunden stammende Sera negativ reagierten. Leider verhielten sich aber die Sera anderweitig Kranker nicht immer ebenso: von diesen ergaben 8 (= 12×3%) ein positives und 5 ein verdächtiges Resultat. Die Mehrzahl dieser Fälle betrafen chronische Kranke mit mehr oder minder hochgradiger Abmagerung z. B.

1. Bei einer Basetow-Patientin, die im Laufe von 1½ Jahr um 54 Kilo abgenommen hatte, zeigte die Meiostagmin-Reaktion einen Ausschlag von 2,8 Tropfen.
2. Prostatahypertrophie mit Arrhythmia perpetua 2,5 Tropfen.
3. Chronische Cystitis mit Arterisculerosis 2,2 Tropfen.
4. Chronische Bronchitis 2,2 Tropfen.

5. Asthma bronchiale 2 Tropfen.
6. Zwei Fälle von Diabetes melitus 1,7 und 2 Tropfen.
7. Chronische Gastritis 2 Tropfen.
8. Ein sehr kachektisch aussehender Kranker mit Tb. pulmon ergab bei der ersten Untersuchung 3,3 Tropfen, als er nach 2 Monaten um 2 Kilo zugenommen hatte, 1,3 Tropfen.

Daraus ersieht man, daß die Meiostagmin-Reaktion nicht einen absoluten Wert besitzt, wie man anfänglich glauben konnte. Bei allen chronischen Krankheiten, bei denen der Kranke in einen gewissen Inanitionszustand geraten ist, neigt die Meiostagmin-Reaktion mehr oder weniger zu einem positiven Resultat. Dieser Umstand schränkt den Wert, der wie aus vorstehender Darstellung hervorgegangen sein dürfte, nur unter Anwendung der verschiedensten Kautelen, also schwierig anzustellenden Probe sehr ein. Die Reaktion ist nicht für Karzinom spezifiert. Bei der immerhin großen Prozentzahl, die ich bei meinen Versuchen beim Karzinom erhielt, — 83% positive Reaktionen — dürfte eher ein negativer Ausfall im Sinne eines Gegenbeweises gegen die klinische Annahme eines Karzinoms zu verwerten sein. Freilich nicht eines absoluten, denn die Reaktion ließ auch bei mehreren klinisch sicheren Ca-Fällen im Stich. Das Desiderium einer sichern, geschweige denn einer Frühdiagnose des Krebses wird durch die Meiostagminprobe nicht erfüllt.

Literatur:

1. Prof. Dr. M. Askoli und Dr. Isar, Münchener med. Wochenschrift 1910, Nr. 2, 8, 16, 18, 22, 32, 41.
2. Dr. F. Micheli und Dr. Cattorretti, Münchener med. Wochenschrift 1910, Nr. 21.
3. Dr. Isar, Wiener klin. Wochenschrift 1912, Nr. 23, 49.
4. Dr. Köhler und Dr. Luger, Wiener klin. Wochenschrift Nr. 29, 1912.
5. Dr. Julchiero, Wiener klin. Wochenschrift 1912, Nr. 43.
6. Zársycki, Wiener klin. Wochenschrift 1913, Nr. 8.
7. Arzt und Krel, Wiener klin. Wochenschrift 1912, Nr. 46.
8. Jarisch, Wiener klin. Wochenschrift 1912, Nr. 39.
9. Freund und Kaminer, Wiener kiin. Wochenschrift 1910, Nr. 34.
10. von Dingern; Münchener med. Wochenschrift 1912, Nr. 2.
11. Stammler, Münchener med. Wochenschrift 1912. Nr. 37.
12. Arzt und Krel, Wiener klin. Wochenschrift 1912, Nr. 43.
13. Wolfsohn, Deutsche med. Wochenschrift 1912, Nr. 41.
14. Isar, Wiener klin. Wochenschrift 1913, Nr. 18.
15. Todesko, Wiener klin. Wochenschrift 1910, Nr. 26.
16. Werson, Wiener klin. Wochenschrift 1910 Nr. 30.
17. Gaspari, Wiener klin. Wochenschrift 1910, Nr. 33.
18. Burger, Lipämie, Münchener med. Wochenschrift 1922, Nr. 4.
19. Chalatow, Flüssige Kristalle, Zeitschrift für Pathologie 1913, Heft 13.
20. D'este, Berliner klin. Wochenschrift 1913, Nr. 19.
21. Stabilini, Berliner klin. Wochenschrift 1910, Nr. 32.
22. De Agostini, Medizinische Klinik 1910, Nr. 29.
23. Askoli und Isar, Berliner klin. Wochenschrift 1910, Nr. 23.
24. Brignatelli, Pathologika 1910, Nr. 43.
25. Isar, Zeitschr. für Imunitätsforschung 1910, Nr. 6 u. 7
26. Isar, Biochemische Zeitschrift 1910, Bd. 29 p. 13.
27. Petrow, Klinitscheskia monographii Moskau 1914.

## Lebenslauf.

Geboren am 21. November 1900 zu Woden (Mazedonien). Ich besuchte die 4 klassige Volksschule, das 3 klassige Progymnasium zu Eski-Dschumaia. Das Realgymnasium absolvierte ich in Stara-Sagora im Juli 1919. Im Jahre 1920 begann ich mein Studium in Graz (Oesterreich), wo ich fünf Semester zubrachte und mein erstes Rigorosum ablegte (1920/21—1922/23.)

1923 legte ich im 3. Staatsgymnasium zu Sofia eine Lateinprüfung ab. Die letzten fünf Semester (1923—1925) stavierte ich in München.